

# Trim26/ZNF173条件性基因敲除小鼠的制备

夏加伟<sup>1\*</sup>, 韩留鑫<sup>1\*</sup>, 余向琼<sup>1</sup>, 李云珍<sup>1</sup>, 沈含章<sup>1</sup>, 李海雯<sup>1</sup>, 张小玲<sup>2</sup>, 肖胜军<sup>3</sup>, 贾俊双<sup>4</sup>, 林晓琳<sup>4</sup>, 肖东<sup>4</sup>, 赵文淘<sup>5#</sup>

<sup>1</sup>昆明市第三人民医院(云南省传染性疾病临床医学中心, 大理大学第六附属医院), 重症医学科, 血液净化中心, 云南 昆明

<sup>2</sup>桂林医科大学基础医学院生理学系, 广西 桂林

<sup>3</sup>桂林医科大学附属第二医院病理科, 广西 桂林

<sup>4</sup>南方医科大学基础医学院肿瘤研究所, 广东 广州

<sup>5</sup>昆明医科大学第三附属医院(云南省肿瘤医院, 云南省癌症中心), 消化肿瘤内科, 云南 昆明

收稿日期: 2022年12月28日; 录用日期: 2023年1月21日; 发布日期: 2023年1月31日

## 摘要

目的: 制备Trim26/ZNF173条件性基因敲除小鼠, 为研究Trim26基因在肝癌发生中的作用及其机制提供动物模型。方法: 设计基因敲除策略, Trim26的外显子5~7缺失引起的移码突变会破坏蛋白结构域, 进而导致Trim26蛋白功能丧失。为此, 我们拟删除Trim26基因的外显子5~7, 以借助Cre/lox P系统构建Trim26基因条件性敲除的小鼠。简单地说, 先获得嵌合体小鼠, 选择高嵌合率小鼠与B6/N小鼠交配获得F1代Trim26<sup>fl/wt</sup>基因型的杂合子小鼠。F1代杂合子小鼠自交得到F2代Trim26<sup>fl/fl</sup>基因型的纯合小鼠和对照野生型小鼠。提取鼠尾基因组DNA并行PCR鉴定基因型, 在DNA水平确定小鼠的基因型。结果: 成功构建了打靶载体, 打靶载体经限制性内切酶线性化后, 成功电转导入了B6/BLU ES 细胞中, ES克隆经过LR-PCR初筛及Southern blot进一步验证, 确定得到了3株中靶ES细胞(即3D、6A和10F), 将中靶ES细胞扩增后进行囊胚注射, 获得了12只Trim26的嵌合体小鼠(嵌合率不小于50%)。选择性成熟后的高嵌合率小鼠与B6/N小鼠交配繁育, 得到F1代小鼠, PCR鉴定基因型确认获得了Trim26<sup>fl/wt</sup>基因型的F1代杂合子小鼠。性成熟后的F1代杂合子小鼠合笼交配后得到F2代小鼠, PCR鉴定基因型确认获得了纯合的Trim26条件性基因敲除小鼠(基因型为Trim26<sup>fl/fl</sup>)。结论: 成功制备了Trim26条件性基因敲除小鼠, 为进一步解析Trim26在肝癌发生中的作用及机制打下了良好基础。

## 关键词

Trim26/ZNF173, 基因敲除小鼠, 肝癌, 肿瘤发生

## Establishment of Trim26/ZNF173 Conditional Gene Knockout Mice

\*第一作者: 夏加伟, 韩留鑫。

#通讯作者: 赵文淘。

Jiawei Xia<sup>1\*</sup>, Liuxin Han<sup>1\*</sup>, Xiangqiong Yu<sup>1</sup>, Yunzhen Li<sup>1</sup>, Hanzhang Shen<sup>1</sup>, Haiwen Li<sup>1</sup>, Xiaoling Zhang<sup>2</sup>, Shengjun Xiao<sup>3</sup>, Junshuang Jia<sup>4</sup>, Xiaolin Lin<sup>4</sup>, Dong Xiao<sup>4</sup>, Wentao Zhao<sup>5#</sup>

<sup>1</sup>Blood Purification Centre, Department of Critical Care Medicine, The Third People's Hospital of Kunming (Yunnan Infectious Diseases Clinical Medical Center, The Sixth Affiliated Hospital of Dali University), Kunming Yunnan

<sup>2</sup>Department of Physiology, Faculty of Basic Medical Sciences, Guilin Medical University, Guilin Guangxi

<sup>3</sup>Department of Pathology, The Second Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin Guangxi

<sup>4</sup>Cancer Research Institute, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou Guangdong

<sup>5</sup>Department of Gastrointestinal Oncology, The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University (Yunnan Cancer Hospital, Yunnan Cancer Center), Kunming Yunnan

Received: Dec. 28<sup>th</sup>, 2022; accepted: Jan. 21<sup>st</sup>, 2023; published: Jan. 31<sup>st</sup>, 2023

## Abstract

**Objective:** To establish the Trim26/ZNF173 conditional gene knockout mice model to lay the foundation for further research on the role of Trim26 gene in hepatocarcinogenesis and underlying mechanisms. **Methods:** Designing gene knockout strategies, the frame-shift mutation caused by the deletion of exon 5~7 of Trim26 will destroy the protein domain, which will lead to the function loss of Trim26 protein. Therefore, we plan to delete exons 5~7 of Trim26 gene to construct Trim26 gene conditional knockout mice with Cre/lox P system. In short, the chimeric mice were obtained first, and then the heterozygous mice (Trim26<sup>fl/wt</sup> genotype) of F1 generation were obtained by mating the chimeric mice with B6/N mice. The F2 generation of homozygous mice with Trim26<sup>fl/fl</sup> genotype was obtained from F1 generation of heterozygous mice by inbreeding. Genomic DNA of mouse tail was extracted and the genotypes of mice were determined at DNA level by PCR. **Results:** The targeting vector was successfully constructed. The targeting vector linearized by restriction endonuclease was successfully electroporated into B6/BLU ES cells. The targeted ES cell clones were preliminarily screened by LR-PCR and further verified by Southern blot, and three targeted ES cells (3D, 6A and 10F) were obtained. By injecting the targeted ES cells into the blastocysts, 12 chimeric mice were obtained (the chimeric rate was not less than 50%). The F1 generation of heterozygous mice with Trim26<sup>fl/wt</sup> genotype was obtained by mating of chimeric mice with B6/N mice. The F2 generation of Trim26 knockout mice with Trim26<sup>fl/fl</sup> genotype were obtained by mating with F1 heterozygous mice with Trim26<sup>fl/wt</sup> genotype. The genotypes of F1 and F2 generation mice were identified by PCR. **Conclusion:** Trim26 conditional gene knockout mice were successfully generated, which lays a good foundation for further understanding the roles of Trim26 in hepatocarcinogenesis and underlying mechanisms.

## Keywords

Trim26/ZNF173, Gene Knockout Mice, Hepatocellular Carcinoma (HCC), Oncogenesis

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 前言

我国原发性肝癌(Hepatocellular Carcinoma, HCC, 简称肝癌)每年的新发病例占全世界每年新发病例

的 45%，是名副其实的“肝癌大国”[1]。国家癌症中心在 2022 年 3 月最新发布的中国肿瘤现状和趋势报道中显示，肝癌的死亡率在男性和女性均居第二位，在城市和农村肝癌的死亡率均居第二位[2]。可见，肝癌是严重威胁我国人民生命健康的疾病。然而，肝癌起病隐匿、恶性程度高、早期诊断困难、预后差，70%~80%的肝癌患者在诊断时就为晚期，已丧失手术治疗机会[3]。虽然手术、介入治疗、靶向治疗和免疫治疗新药在肝癌治疗中取得了一些临床进展，但是目前报道的肝癌五年生存率仅为 19.6% [4]。因此，加强肝癌发生分子机制的研究非常重要，通过研究有望筛选出更多的肝癌预防干预和治疗的新靶点[5]。我们前期的预实验结果显示，Trim26/ZNF173/RNF95 在人 HCC 组织中表达显著下调，Trim26 抑制小鼠正常肝细胞增殖，这就提示 Trim26 表达下调可能与 HCC 发生相关。因此，我们拟制备 Trim26 条件性基因敲除小鼠，为下一步研究 Trim26 基因在肝癌发生中的作用及机制提供动物模型。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验动物

在获得最终 Trim26 条件性基因敲除小鼠之前，打靶策略、打靶质粒构建、同源重组 ES 克隆筛选与鉴定、中靶 ES 细胞囊胚注射获取嵌合体小鼠以及最终获得可遗传的 F1 代杂合子等工作由南京大学-南京生物医药研究院完成。小鼠饲养于 SPF 级屏障设施内，设施使用许可证号：SYXK(粤)2021-0167。实验方案得到实验动物使用管理委员会的批准。

### 2.2. 主要试剂

Trim26 条件性基因敲除打靶载体由南京大学 - 南京生物医药研究院构建，各种限制性内切酶、T4、DNA 连接酶、PCR 扩增试剂 dNTP 和 Taq 酶、DNA marker、鼠尾基因组 DNA 裂解液以及 Southern 印迹相关试剂等购自 TaKaRa 及 NEB 公司，质粒抽提试剂盒及凝胶回收试剂盒购自 Qiagen 公司，硝酸纤维素膜购自 S & S 公司，细胞培养所需试剂为 Invitrogen 公司产品。引物合成和测序由上海英骏生物技术有限公司完成。其余试剂为国产或进口化学纯或分析纯。

### 2.3. 小鼠 ES 细胞培养

ES 细胞每 2~3 天按照 1:3 的比例传代一次。培养 ES 细胞的培养皿在接种饲养层(即小鼠胚胎成纤维细胞)细胞前先用 0.1% 明胶处理。传代过程：弃去原培养基，加入 1.5 ml 0.25% 胰酶消化 5 min 后，加入含有 15% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基中和胰酶反应。然后用吸管轻轻吹打，直至成为单细胞悬液。将单细胞悬液按 1:3 的比例转移到新的含有饲养层细胞的 35 mm 细胞培养皿中，补加相同培养基。将细胞悬液摇匀后，放置于 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 培养箱中培养；每日换液，细胞长满后继续传代。

### 2.4. ES 线性化的打靶载体电转 ES 细胞以及中靶 ES 细胞筛选和鉴定

采用电转方法转染 ES 细胞，其条件参照文献[6]。构建打靶载体，并使用限制性内切酶线性化打靶载体。然后将线性化的打靶载体，电转入 B6/BLU ES 细胞中，通过 Long Range PCR 及 Southern blot 筛选出正确同源重组的 ES 克隆。中靶 ES 克隆经过囊胚注射，最终获得可遗传的 F1 代杂合子和 F2 代纯合子。

### 2.5. 基于小鼠组织基因组行 PCR 鉴定基因型

提取高质量 ES 细胞和鼠尾基因组 DNA，并将 DNA 重悬于 50 μl TE 中，37℃ 过夜溶解，可用作 Southern blot 实验。鼠组织基因组 DNA 粗提：剪鼠尾约 0.5 cm 放入 Ep 管中，加入 100 μl SA 液，置于 95℃，50 min。

加 SB 液 100  $\mu$ l 于 Ep 管内, 震荡 20 次, 3000 rpm 离心 10 min, 取 70  $\mu$ l 上清做 PCR 分析。PCR 引物 (F: Forward, 上游引物; R: Reverse, 下游引物) 详见表 1。

**Table 1.** Primers used for genotype identification by PCR

**表 1.** PCR 鉴定基因型所用引物

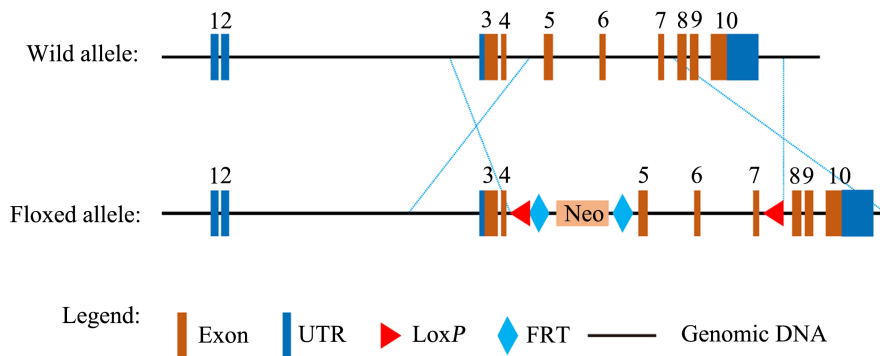
引物名称	引物序列	PCR 产物大小
Trim26-FRT-tF1	GCCTGGCAGTGTCTAGCCAG	FL: 660 bp wt: 510 bp
Trim26-FRT-tR1	ATTGATACCCGCTCGATCCT	
Trim26-LoxP-tF1	ACACCAAGGACTTCGCCAACAA	Fln = fl = 513 bp wt: 390 bp
Trim26-LoxP-tR1	TGACAATTACAAGGCAAGCA	
Neo-5R	GGCTGGACGTAAACTCCTC	Fln: 414 bp
Trim26-FRT-tR1	ATTGATACCCGCTCGATCCT	
Flp-F2	GACAAGCGTTAGTAGGCACATATAC	T = 325 bp
Flp-R2	GCTCCAATTTCCCACAACATTAGT	
Myo-F1	TTACGTCCATCGTGGACAGC	245 bp
Myo-R1	TGGGCTGGGTGTTAGCCTTA	

### 3. 结果

#### 3.1. Trim26 基因敲除方案

锌指蛋白 Trim26/ZNF173/RNF95 基因是一个核转录因子, 定位于 6 号染色体的主要组织相容性复合体 (Major Histocompatibility Complex, MHC) 区域, 基因组含有 10 个外显子, 编码由 545 个氨基酸构成的蛋白质。Trim26 是 Tripartite 基序家庭成员之一, 包含 3 个锌指结构域、一个 RING、一个 B-box 1 型、一个 B-box 2 型和一个螺旋-螺旋结构域, 其中锌指结构域结合 DNA, 参与基因表达调控, RING 结构域具有 E3 泛素连接酶的活性, B-box 2 结构域也参与蛋白泛素化修饰。

通过对 Trim26 蛋白结构域的分析发现, 外显子 5~7 缺失引起的移码突变会破坏蛋白结构域, 进而导致 Trim26 蛋白功能丧失。为此, 我们拟删除 Trim26 基因的外显子 5~7, 以借助 Cre/lox P 系统构建 Trim26 基因条件性敲除的小鼠 (图 1)。

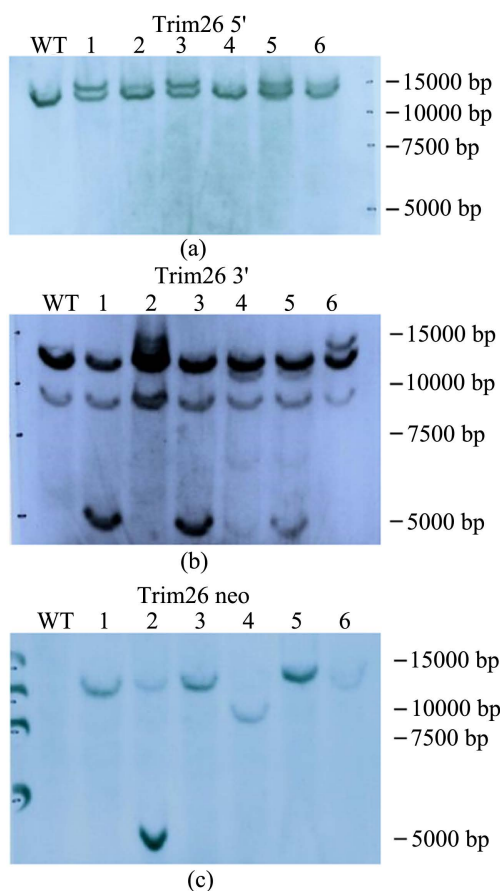


**Figure 1.** Schematic diagram of the establishment of Trim26 conditional gene knockout mice mediated by Cre/lox P system  
**图 1.** 借助 Cre/lox P 系统建立 Trim26 条件性基因敲除小鼠的策略示意图

### 3.2. 筛选和鉴定发生正确同源重组的 ES 克隆以及嵌合体小鼠获取

按照图 1 所展示的建立 Trim26 基因条件性敲除小鼠的方案, 构建打靶载体。打靶载体经限制性内切酶线性化后, 电转导入 B6/BLU ES Cell line 中。电转后 24 小时更换含有 G418 抗性的培养基进行加压筛选。利用 G418 筛选可以得到含有新霉素基因(neomycin)的 ES 细胞, 这种细胞发生了打靶载体的插入, 但是 G418 筛选无法排除打靶载体随机整合入基因组进而获得抗性的细胞; 在随机插入情况下, 打靶载体携带的 DTA (白喉毒素(Diphtheria Toxin, DT) A 片段)表达, 而 DTA 可以直接杀死细胞, 不需要再通过加入 Gancyclovirs 的方式进行阴性筛选。这样利用以上筛选可以使得中靶细胞得到最大程度的富集。

ES 细胞在如上筛选培养基中培养 7 天后, 挑取仍然存活的抗性 ES 克隆, 以进行扩增培养。扩增后的抗性 ES 细胞克隆分成两份冻存, 以备确定中靶细胞序列号后进行扩增培养和后续的囊胚注射; 一份用来提取基因组 DNA, 进行中靶细胞的筛选和鉴定。对挑取的 96 个克隆通过 Long Range PCR 策略初筛, 得到 16 株中靶 ES 细胞(3D、5G、6A、9D、10F、11A、11G、12E、1F、3B、3C、3E、4F、5D、10B 和 11G) (筛选结果未显示)。接着, 经 Southern blot 进一步验证, 确定得到 3 株中靶 ES 细胞(即 3D、6A 和 10F) (图 2)。



(a): 5'-end 筛选; (b): 3'-end 筛选; (c): neo 筛选。

WT, 野生型小鼠的基因组 DNA; 1~6 泳道为样品 ES 细胞克隆的基因组 DNA, 1~6 泳道分别对应 3D、5G、6A、9D、10F 和 11G 样品 ES 细胞克隆。

Southern blot 鉴定结果: 样品 1 (3D)、3 (6A) 和 5 (10F) 为阳性克隆。

**Figure 2.** The targeted ES cell clones were screened by Southern blot

**图 2.** Southern blot 筛选中靶 ES 细胞阳性克隆

将 Southern 印迹确证的中靶 ES 细胞(即 3D 6A 和 10F)复苏, 于 24 孔板内扩增之后, 进行囊胚注射, 获得 12 只 Trim26 的嵌合体小鼠(嵌合率不小于 50%) (图 3 和表 2)。



**Figure 3.** Photo of the chimeric mouse

**图 3.** 嵌合体小鼠照片

**Table 2.** Details of chimeric mice

**表 2.** 嵌合体小鼠明细

ID	Gender	Color	Generation	Remarks
1	♂	90% B	chimera	3D
2	♂	50% B	chimera	3D
3	♂	90% B	chimera	3D
4	♂	60% B	chimera	3D
5	♂	85% B	chimera	3D
6	♂	70% B	chimera	6A
7	♂	75% B	chimera	6A
8	♂	90% B	chimera	6A
9	♂	85% B	chimera	6A
12	♂	90% B	chimera	10F
13	♂	50% B	chimera	10F
14	♂	70% B	chimera	10F

### 3.3. Trim26 基因条件性敲除小鼠获取

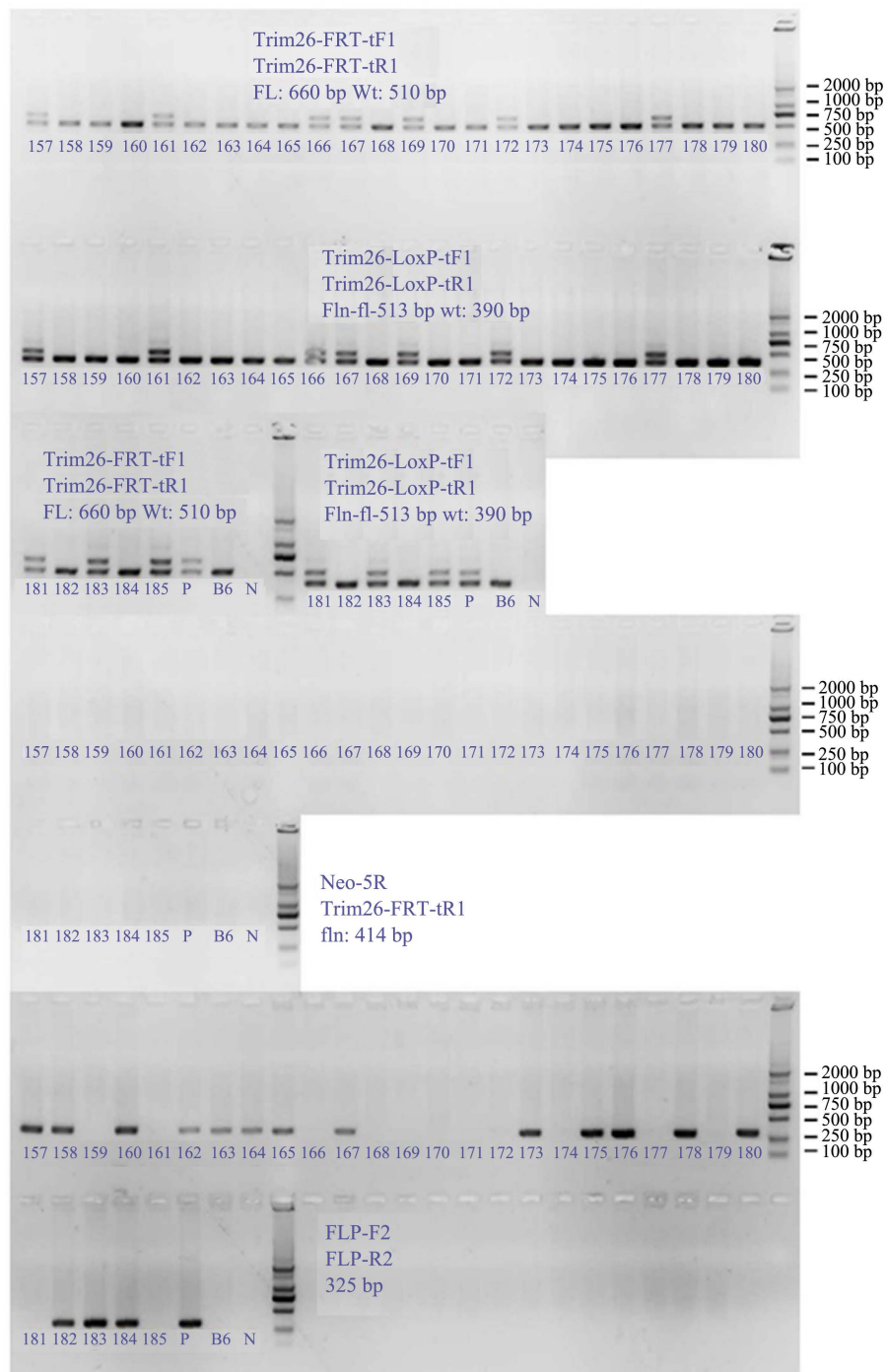
选择性成熟后的高嵌合率小鼠与 B6/N 小鼠交配进行繁育, 得到 F1 代小鼠, 并行 PCR 鉴定基因型, 获得 Trim26<sup>fl/wt</sup> 基因型的 F1 代杂合子小鼠(图 4 和表 3)。

**Table 3.** Details of heterozygous mice

**表 3.** 杂合子小鼠明细

ID	Sex	Gty	Color	F/M	Generation
56	♂	Fln/wt	B	♂ 8#	F1
58	♀	Fln/wt	B	♂ 8#	F1
61	♀	Fln/wt	B	♂ 8#	F1
62	♀	Fln/wt	B	♂ 8#	F1
63	♀	Fln/wt	B	♂ 8#	F1
64	♀	Fln/wt	B	♂ 8#	F1
65	♀	Fln/wt	B	♂ 8#	F1

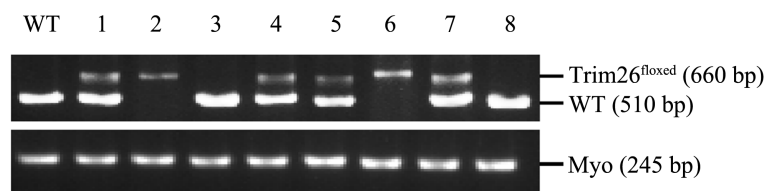




N, 空白对照; B6, 野生型小鼠的基因组 DNA; P, 阳性对照; 157~185 泳道为样品基因组 DNA。基因型鉴定结果: 157、161、166、167、169、172、177、181、183 和 185 为杂合子(Trim26<sup>fl/wt</sup>), 其余为野生型(WT); 157、158、160、162~165、167、173、175、176、178、180 和 182-184 为 F1per 杂合子(F1per<sup>fl/wt</sup>)。

**Figure 4.** Electrophoresis diagram for genotype identification of Trim26<sup>fl/wt</sup> mice  
**图 4.** Trim26<sup>fl/wt</sup> 小鼠基因型鉴定电泳图

性成熟后的 Trim26<sup>fl/wt</sup> 基因型的 F1 代杂合子小鼠合笼交配, 得到 F2 代小鼠, 并行 PCR 鉴定基因型, 获得纯合的 Trim26 条件性基因敲除小鼠(基因型: Trim26<sup>fl/fl</sup>) (图 5 和表 3)。



WT, 野生型小鼠的基因组 DNA; 1~8 泳道为样品基因组 DNA。

基因型鉴定结果: 样品 2 和 6 为纯合子( $\text{Trim26}^{\text{fl/fl}}$ ), 样品 1、4、5 和 7 为杂合子( $\text{Trim26}^{\text{fl/wt}}$ ), 样品 3 和 8 为野生型(WT)。

**Figure 5.** Electrophoresis diagram for genotype identification of  $\text{Trim26}^{\text{fl/fl}}$  mice

**图 5.**  $\text{Trim26}^{\text{fl/fl}}$  小鼠基因型鉴定电泳图

## 4. 讨论

在传统的基因敲除小鼠模型中, 若敲除的基因对生命活动至关重要, 则基因被完全敲除后小鼠常出现胚胎致死或出生后不久就死亡的现象, 限制了进一步在体内研究所敲除基因的功能[7], 本文中我们采用的条件性基因敲除技术是基于 Cre-LoxP 系统介导下的一种位点基因特异性重组技术, 借助 Cre/lox P 系统来删除 Trim26 基因的外显子 5~7, 外显子 5~7 缺失引起的移码突变会破坏蛋白结构域, 进而导致 Trim26 蛋白功能丧失。通过该基因敲除策略, 我们获得了基因型为  $\text{Trim26}^{\text{fl/fl}}$  的纯合的 Trim26 条件性基因敲除小鼠, 该小鼠与组织特异性 Cre 品系小鼠交配后可获得组织或细胞特异性敲除 Trim26 的小鼠, 该小鼠与全身性敲除 Cre 品系(如: CMV-Cre)交配后可获得全身性敲除 Trim26 基因的小鼠, 这就使得对小鼠 Trim26 基因的敲除处于时空可调控的状态, 为后续在小鼠体内进一步研究 Trim26 基因在肝癌发生中的作用及机制奠定了良好的研究基础。

锌指蛋白 TRIM26 基因是一个转录因子, 定位于 6 号染色体的主要组织相容性复合体(Major Histocompatibility Complex, MHC)区域[8]。Trim26 是 Tripartite 基序家庭成员之一, 包含 3 个锌指结构域、一个 RING、一个 B-box 1 型、一个 B-box 2 型和一个螺旋-螺旋结构域, 其中锌指结构域结合 DNA, 参与基因表达调控, RING 结构域具有 E3 泛素连接酶活性, B-box 2 结构域也参与蛋白泛素化修饰[9]。目前, 为数不多的研究是有关它具有 E3 泛素连接酶的活性[10], 在呼吸道疾病[11]、抗 HIV-1 感染[12]和作为精神分裂症的易感基因[13]等方面发挥作用。总之, 目前对 Trim26 的功能还知之甚少。

现有的少量证据表明, Trim26 与肿瘤亦有关系。新近研究证实, Mule 和 Trim26 介导的 NEIL1 泛素化依赖调节参与了细胞 DNA 损伤反应过程, 抑制 Trim26 的表达后, 增强了人骨肉瘤 U2OS 细胞对放疗的抵抗性[14]。还有研究结果显示, Trim26 在鼻咽癌组织中表达明显下调, 且该基因表达下调与鼻咽癌低免疫反应密切相关[15]; TRIM26 在子宫内膜癌组织和子宫内膜癌细胞系中表达下调, TRIM26 通过调节 AKT 通路和凋亡过程, 抑制子宫内膜癌细胞增殖[16]; TRIM26 在非小细胞肺癌肿瘤组织和细胞系中都显著下调, TRIM26 通过抑制 PI3K/AKT 通路而抑制非小细胞肺癌细胞增殖[17]。然而, 有研究表明 Trim26 在膀胱癌组织和膀胱癌细胞中均表达上调, 敲减 Trim26 表达后, 抑制膀胱癌细胞的增殖、侵袭和转移[18]; TRIM26 在肺癌细胞系(H1299、A549)和肺癌患者肿瘤组织中明显高表达, TRIM26 可能在肺癌中发挥癌基因的作用[19]。可见 Trim26 的生物学功能非常复杂, 其在不同肿瘤中可能发挥着完全不同的生物学功能, 在同一肿瘤的不同细胞系中也可能发挥着相反的生物学功能。总之, 目前我们对 Trim26 在肿瘤发生发展过程中的功能仍然不明确, 还有待进一步深入研究。而我们前期的预实验结果显示 Trim26 在人 HCC 组织中表达显著下调, Trim26 抑制小鼠的正常肝细胞增殖。我们课题组前期在人和小鼠主要组织器官中通过免疫组化研究 Trim26 表达谱的结果显示, Trim26 在人和小鼠的正常肝脏中均有明显表达[20]。Wang 等的研究[21]发现 Trim26 在人 HCC 组织中表达水平明显下调, 且该基因表达下调与 HCC



患者的不良预后密切相关。这些研究结果均提示 Trim26 表达下调可能与 HCC 的肿瘤发生相关。让 Trim26 在肝脏中表达缺失, 可进一步研究该基因与 HCC 发生的相关性。目前, 我们已制备了 Trim26 条件性基因敲除小鼠, 对于进一步研究 Trim26 基因在肝癌发生中的作用及机制具有重要意义。

## 基金项目

云南省科技厅地方高校联合专项基金(202001BA070001-063、202001BA070001-043); 云南省科技厅基础研究专项基金(202001BA070001-043); 国家自然科学基金(82060425、81702778); 广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA159131)。

## 参考文献

- [1] 曹毛毛, 李贺, 孙殿钦, 等. 全球肝癌 2020 年流行病学现状[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2022, 29(5): 322-328.
- [2] Yang, T., Xiong, Y., Zeng, Y., *et al.* (2022) Current Status of Immunotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article ID: 989461. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.989461>
- [3] Zhao, W.T., Han, L.X., Liu, L., *et al.* (2021) The Yunnan National Medicine Maytenus Compound Inhibits the Proliferation of Hepatocellular Carcinoma (HCC) by Suppressing the Activation of the EGFR-PI3K-AKT Signaling Pathway. *Journal of Cancer*, **12**, 3325-3334. <https://doi.org/10.7150/jca.56426>
- [4] Chidambaranathan-Reghupaty, S., Fisher, P.B. and Sarkar, D. (2021) Hepatocellular Carcinoma (HCC): Epidemiology, Etiology and Molecular Classification. *Advances in Cancer Research*, **149**, 1-61. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2020.10.001>
- [5] Vogel, A., Meyer, T., Sapisochin, G., *et al.* (2022) Hepatocellular Carcinoma. *The Lancet*, **400**, 1345-1362. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01200-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01200-4)
- [6] 杨晓, 黄培堂, 黄翠芬. 基因打靶技术[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [7] 袁涛, 王勇卓, 黄远章, 等. 基于 Cre/LoxP 系统建立软骨组织特异性印第安刺猬蛋白基因敲除小鼠模型[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(19): 3013-3018.
- [8] Beck, T.W., Menninger, J., Murphy, W.J., *et al.* (2005) The Feline Major Histocompatibility Complex Is Rearranged by an Inversion with a Breakpoint in the Distal Class I Region. *Immunogenetics*, **56**, 702-709. <https://doi.org/10.1007/s00251-004-0742-6>
- [9] 陈艳清, 曹树辉, 李传友. 三结构域蛋白(TRIM)家族结构及功能的研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2017, 37(6): 479-484.
- [10] Zhao, W., Li, Q., Ayers, S., *et al.* (2013) Jmjd3 Inhibits Reprogramming by Upregulating Expression of INK4a/Arf and Targeting PHF20 for Ubiquitination. *Cell*, **152**, 1037-1050. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.006>
- [11] Lee, J.S., Bae, J.S., Kim, J.H., *et al.* (2012) Association Study between TRIM26 Polymorphisms and Risk of Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease. *International Journal of Molecular Medicine*, **29**, 927-933.
- [12] Raposo, R.A., Abdel-Mohsen, M., Bilska, M., *et al.* (2013) Effects of Cellular Activation on Anti-HIV-1 Restriction Factor Expression Profile in Primary Cells. *Journal of Virology*, **87**, 11924-11929. <https://doi.org/10.1128/JVI.02128-13>
- [13] Consortium (2012) Expression QTL Analysis of Top Loci from GWAS Meta-Analysis Highlights Additional Schizophrenia Candidate Genes. *European Journal of Human Genetics*, **20**, 1004-1008. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.38>
- [14] Edmonds, M.J., Carter, R.J., Nickson, C.M., *et al.* (2017) Ubiquitylation-Dependent Regulation of NEIL1 by Mule and TRIM26 Is Required for the Cellular DNA Damage Response. *Nucleic Acids Research*, **45**, 726-738. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw959>
- [15] Lyu, X.M., Zhu, X.W., Zhao, M., *et al.* (2018) A Regulatory Mutant on TRIM26 Conferring the Risk of Nasopharyngeal Carcinoma by Inducing Low Immune Response. *Cancer Medicine*, **7**, 3848-3861. <https://doi.org/10.1002/cam4.1537>
- [16] Lu, T. and Wu, Y. (2022) Tripartite Motif Containing 26 Is a Positive Predictor for Endometrial Carcinoma Patients and Regulates Cell Survival in Endometrial Carcinoma. *Hormone and Metabolic Research*, **54**, 859-865. <https://doi.org/10.1055/a-1926-7364>
- [17] Tao, J.L., Luo, M., Sun, H., *et al.* (2020) Overexpression of Tripartite Motif Containing 26 Inhibits Non-Small Cell Lung Cancer Cell Growth by Suppressing PI3K/AKT Signaling. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, **36**,

- 417-422. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12194>
- [18] Xie, X., Li, H., Pan, J., *et al.* (2021) Knockdown of TRIM26 Inhibits the Proliferation, Migration and Invasion of Bladder Cancer Cells through the Akt/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -Catenin Pathway. *Chemico-Biological Interactions*, **337**, Article ID: 109366. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109366>
- [19] Xia, Y.C. and Zha, J.H. (2021) Inhibition of Tripartite Motif Containing 26 Inhibits Non-Small Cell Lung Cancer Cell Growth. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, **37**, 440-441. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12330>
- [20] 廉梅, 林晓琳, 贾俊双, 等. TRIM26 在人和小鼠主要组织器官中的表达谱[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(8): 10-15.
- [21] Wang, Y., He, D., Yang, L., *et al.* (2015) TRIM26 Functions as a Novel Tumor Suppressor of Hepatocellular Carcinoma and Its Downregulation Contributes to Worse Prognosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **463**, 458-465. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.05.117>